

NOTA DE INVESTIGACION**PROPAGACION DEL ANIS DE CAMPO*****Ocimum selloi* (Lamiaceae) POR MEDIO DE ESQUEJES**

Burgos, Angela M., López, Alfredo E., Cenóz, Pedro J.
Cátedra de Cultivos III, Facultad de Ciencias. Agrarias, U.N.N.E.

RESUMEN

El género *Ocimum* L. posee alrededor de 30 especies originarias de los trópicos y subtropicos, muchas de ellas utilizadas como condimentos y medicinales, debido a las propiedades de sus aceites esenciales. *O. selloi* Benth. solo ha sido cultivada en jardines o recolectada de poblaciones silvestres. La investigación se realizó en Corrientes, Argentina (noviembre de 2002); su objetivo fue desarrollar un procedimiento eficiente de propagación de *O. selloi*. Para ello, estacas herbáceas fueron puestas a enraizar bajo diferentes condiciones ambientales: al aire libre o bajo túnel de polietileno; empleándose como sustrato suelo de monte o una mezcla inerte compuesta por perlita y vermiculita. El enraizamiento de los esquejes fue exitoso en ambos sustratos, 64,83% y 79,83% respectivamente; asimismo, la mezcla inerte promovió una respuesta temprana (día 14). Esta mezcla y el túnel promovieron un mayor número de raíces por estaca entre la 3ª (13 raíces/estaca) y la 4ª semana (8 raíces/estaca). Estas mismas condiciones favorecieron la brotación de las estacas aunque en forma temprana (2ª semana). En cuanto a la longitud de las raíces no se manifestaron diferencias entre tratamientos. Los resultados indican claramente la aptitud de *O. selloi* para ser multiplicado por esta técnica de propagación vegetativa. El enraizamiento temprano de las estacas de *O. selloi* y consecuentemente la precoz productividad y rentabilidad del cultivo serían optimizadas por medio de este procedimiento de multiplicación.

Palabras clave: plantas medicinales, propagación vegetativa, sustrato.

SUMMARY

The genus *Ocimum* L. includes about 30 species native to the tropics and subtropics and due to their essential oils characteristics many of them have been used to flavor foods, and with medicinal purposes. *O. selloi* Benth. is either cultivated at home gardens or simply collected from wild population. This research was carried out in Corrientes, Argentina, on november 2002. The aim was to develop an efficient propagation procedure for *O. selloi* plants. Therefore, herbaceous cuttings were grown under different

comparative environmental conditions: in open air or under a polyethylene tent; using as rooting media soil or an inert mixture. Adventitious rooting was induced in both media, but the inert substrate promoted an earlier response, not affecting its subsequent rate. The inert mixture and the plastic tent produced more roots than the other after 3 (13 roots/cutting)-4 weeks (8 roots/cutting). The same conditions as above mentioned promoted cutting sprouting although earlier for this case (2nd week). No differences in root length was observed among treatments. These results clearly show that *O. selloi* is amenable to vegetative propagation technique. This multiplication procedure promotes an earlier rooting and sprouting of *O. selloi* cuttings therefore an earlier and profitable production.

Key words: medicinal plants, vegetative propagation, substrate.

INTRODUCCION.

El género *Ocimum* L. posee alrededor de 30 especies originarias de zonas tropicales y subtropicales del Nuevo y Viejo Continente (Paton, 1992). Uno de los centros de diversidad del género se encuentra en la región tropical de Sudamérica (Khosla, 1995) particularmente en Brasil. Muchas de sus especies tienen utilidad comercial como fuente de aceites esenciales de uso farmacéutico, alimenticio, condimentario, perfumífero (Martins *et al.*, 1997) e insecticida (Moraes *et al.*, 2002). También han sido utilizadas desde la antigüedad en rituales tradicionales y religiosos (Simon *et al.*, 1984).

Ocimum selloi Benth (syn. *O. sellowii* Benth.; *O. carnosum* Benth.) es una planta herbácea anual de la familia *Lamiaceae*, se encuentra en el sureste y sur de Brasil (Martins, 1998) y en el Paraguay. En Argentina crece espontáneamente en las provincias de Corrientes, Entre Ríos, Misiones, Jujuy y Salta (Xifreda, 1999). Esta especie aun no es cultivada a escala comercial y por el momento sólo se la encuentra en forma silvestre o en jardines domésticos. (Vieira & Simon, 2000)

Es conocida como “elixir paregórico”, “anis de campo”, “albahaca anisada” o simplemente “anis” por la presencia de transanethol como el mayor constituyente de sus aceites esenciales

junto al metil-chavicol y el metil-eugenol (Moraes *et al.*, 2002; Sousa *et al.*, 1991; Martins *et al.*, 1997; Martins, 1998). El extracto etanólico de *O. selloi* posee propiedades estomáquicas, antiinflamatorias, carminativas, antiespasmódicas, y analgésicas (Vanderline *et al.*, 1994; Sousa *et al.*, 1991).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la propagación asexual del anís de campo por medio de esquejes como medio de multiplicación y analizar la influencia del tipo de sustrato y de las condiciones ambientales en el proceso morfogénico.

MATERIALES Y METODOS

La experiencia se realizó en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste. (Ruta Nac. N° 12, km 5), en el Departamento Capital de la Provincia de Corrientes, Argentina; sobre los 27°25' de latitud sur y 58°40' de longitud oeste. El clima está caracterizado como subhúmedo-húmedo, con escaso déficit de agua, precipitación media anual de 1300 mm siendo menores en invierno, con picos en primavera y otoño y mayores en el verano, la temperatura media anual es de 21,6° C. que caracterizan a un clima tropical, aunque se considera transicional hacia el subtropical por tener temperaturas medias mínimas inferiores a 18° C. La frecuencia media de días con heladas es de 1 a 2 registros anuales en promedio (Escobar. *et al.*, 1994).

Los esquejes se obtuvieron de plantas madres ya existentes en el lugar, a partir de ramas secundarias y terciarias. Cada esqueje (9 a 15 cm de longitud) estaba constituido por dos a tres nudos, dependiendo de la longitud de los entrenudos, retirándose las hojas fueron al inicio del experimento (18 de noviembre de 2002). Las estacas median entre 9 y 15 cm de longitud y 3 a 5 mm de diámetro, se cortaron con tijeras de podar y los cortes se hicieron en bisel. Durante el lapso entre inducción del enraizamiento y plantación las estacas se colocaron en agua por no más de dos horas. Luego se insertaron en el medio de enraizamiento, hasta dos tercios de su longitud en un hoyo previamente realizado, con el fin de preservar la base de las estacas de cualquier daño mecánico. Durante el período de observaciones, se realizaron 3 a 4 riegos semanales intensos con regadera de flor fina. La parcela de ensayo se localizó bajo una malla de sombreado 60 %.

Se evaluaron diversos sustratos compuestos por suelo de monte (esterilizado por calor), perlita y vermiculita en iguales proporciones (1:1, vol/vol) y dispuestas al aire libre o bajo un túnel de cobertura plástica.

Los tratamientos consistieron en la combinación de los factores relacionados a la condición ambiental y al medio utilizado para el establecimiento de las estacas. Las combinaciones resultantes fueron: bajo túnel con sustrato (Tratamiento 1), bajo túnel con tierra de monte (Trat. 2), al aire libre con sustrato (Trat. 3) y al aire libre con tierra de monte (Trat. 4). En los tratamientos se evaluó: % enraizamiento, número de raíces por estaca, longitud total de raíces (en cm.) y % de estacas con brotación vegetativa. Se consideró yema brotada cuando la longitud de los brotes resultantes superaron 0,5 cm de longitud.

Las evaluaciones se realizaron a los 14, 21 y 28 días de la inducción.

El diseño experimental utilizado fue un factorial de 2², con distribución en bloques al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Los resultados obtenidos fueron sometidos al análisis de la variancia (ANOVA) y una posterior prueba de significancia de Tukey ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

El enraizamiento temprano de los esquejes medido al día 14 (Cuadro 1), se ve significativamente favorecido por el uso de sustrato inerte, pero durante las siguientes mediciones, realizadas los días 21 y 28 (Cuadros 2 y 3), no se verifican diferencias significativas atribuibles al sustrato. El tipo de ambiente no tuvo incidencia significativa en la determinación del porcentaje de enraizamiento.

Respecto al número de raíces, recién a partir de la segunda toma de datos (día 21), comienzan a manifestarse diferencias entre los tratamientos (Cuadro 2). Los esquejes bajo túnel desarrollaron un significativo mayor número de raíces que aquellos que se encontraban al aire libre, pero esta diferencia pierde significancia en la siguiente toma de datos (día 28).

El sustrato no manifiesta diferencias significativas hasta el día 28 (Cuadro 3). El número de raíces emergidas en los esquejes puestos a enraizar en la mezcla de perlita-vermiculita, es significativamente superior que en aquellas puestas en tierra. Para la variable número de raíces, se presenta una interacción entre el ambiente y el sustrato registrada a los 21 días, con una media significativamente superior para la combinación suelo de monte y túnel (23,45).

En cuanto a la longitud radicular, ninguna de las variables consideradas causaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Respecto al porcentaje de brotación de estacas, se registraron diferencias significativas sólo a los 14 días, momento en el cual el tratamiento 1 tuvo el mayor porcentaje de brotación (Cuadro

1). Los datos obtenidos posteriormente (Cuadros entre tratamientos.

2 y 3), no muestran diferencias significativas

Cuadro :1 Valores medios y error estadístico de enraizamiento y brotación de estacas a los 14 días de estaqueo.

Tratamiento	% de enraizamiento	N° de raíces/estaca	longitud radicular (cm)	% de brotación
1	95 a (b) ±2,89	6,22 a (a) ±1	5,59 a (a) ±1,24	96 b (b) ±1,25
2	55 a (a) ±6,45	3,60 a (a) ±0,72	3,60 a (a) ±1,05	72 b (a) ±5,95
3	75 a (b) ±6,45	5,17 a (a) ±1,48	6,62 a (a) ±2,26	81 a (b) ±5,54
4	57 a (a) ±8,54	3,65 a (a) ±1,21	8,37a (a) ±4,47	56 a (a) ±3,15

a, b: ambiente; (a), (b): sustrato. Letras distintas indican diferencia significativa al 0,05%

Cuadro 2: Valores medios y error estadístico de enraizamiento y brotación de estacas a los 21 días de estaqueo.

Tratamiento	% de enraizamiento	promedio n° de raíces/estaca	longitud radicular (cm)	% de brotación
1	92 a (a) ±2,5	13 b (a) ±0,77	44 a (a) ±3,85	92 a (a) ±2,5
2	80 a (a) ±10,8	23 b (a) ±4,63	47 a (a) ±7,84	77 a (a) ±13,15
3	92 a (a) ±2,5	10 a (a) ±0,62	32 a (a) ±1,87	92 a (a) ±2,5
4	100 a (a) --	8 a (a) ±0,43	42 a (a) ±2,33	92 a (a) ±4,33

a, b: ambiente; (a), (b): sustrato. Letras distintas indican diferencia significativa al 0,05%

Cuadro 3: Valores medios y error estadístico de enraizamiento y brotación de estacas a los 28 días de estaqueo.

Tratamiento	% de enraizamiento	promedio n° de raíces/estaca	longitud radicular (cm)	% de brotación
1	65 a (a) ±5	8 a (b) ±0,30	18 a (a) ±1,14	65 a (a) ±5
2	42 a (a) ±13,15	4 a (a) ±1,45	14 a (a) ±5,34	45 a (a) ±11,9
3	60 a (a) ±11,55	5 a (b) ±1,36	12 a (a) ±2,87	52 a (a) ±8,54
4	55 a (a) ±13,23	3 a (a) ±0,92	10 a (a) ±2,83	57 a (a) ±9,46

a, b: ambiente; (a), (b): sustrato. Letras distintas indican diferencia significativa al 0,05%

DISCUSION

La importancia que tiene el tipo de sustrato en el enraizamiento de estacas está ampliamente reconocido (Leakey, 1990; Tchoundjeu & Leakey, 2001).

Las estacas de muchas especies de plantas enraízan con facilidad en una gran diversidad de medios para enraizamiento. En aquellas en que este proceso ocurre con dificultad, el medio puede influir mucho, no sólo en la tasa de enraizamiento, sino también en la calidad del sistema radical que se forma. Por otra parte, el sustrato de enraizamiento tiene tres funciones esenciales, a saber: mantener la estaca en su

lugar durante el proceso de establecimiento, proporcionarle humedad y permitir la penetración de aire a la base de la misma (Anónimo, 2002).

Las diferentes especies tienden a tener un sustrato óptimo de enraizamiento, que está ligado a su estado hidromórfico o xeromórfico (Loach, 1985) y el efecto de éste, sobre las relaciones hídricas de los esquejes (Mesén *et al.*, 1997). En general los medios con contenidos relativamente altos de agua están asociados con mayores rangos de absorción hídrica por parte del esqueje (Loach, 1985) y consecuentemente con la fotosíntesis (Mesén *et al.*, 1997).

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que el enraizamiento inicial de estacas de *O. selloi*, al igual que la brotación inicial de las yemas, se ven favorecidos por el uso de sustrato (perlita-vermiculita), en contraposición al uso de tierra. Este mayor porcentaje de enraizamiento se puede atribuir a la mayor relación relativa aire/agua y al contenido hídrico del sustrato (Shiembo *et al.*, 1996).

La perlita es utilizable por sus buenas propiedades de drenaje y se puede usar sola, pero aumenta su efectividad si se emplea mezclada en diversas proporciones con musgo o vermiculita. Esta última se caracteriza por mantener por largo tiempo la humedad, favoreciendo las condiciones de emisión radicular (Anónimo, 2002).

Estas características del sustrato inerte utilizado favorecerían las condiciones de enraizamiento inicial, asegurándole la provisión de agua para el esqueje y su capacidad de brotación, lo que explica el éxito en la obtención del plantín. Una vez que se ha producido la emisión rápida y abundante de raíces, éstas son ya capaces de absorber al agua más escasa y el sustrato pierde significancia como factor limitante del establecimiento del cultivo.

El menor número inicial de raíces producido en el otro sustrato (tierra) puede deberse a procesos de hipoxia, como fuera observado en estacas de *Chrysanthemum* y *Cupressocyparis leylandii*, por no permitir la suficiente penetración de aire a la base de las mismas y consecuentemente no cumplir una de las funciones esenciales como medio de enraizamiento antes mencionadas. (Hartmann *et al.*, 1990).

Respecto a las condiciones ambientales que circundan al esqueje en proceso de establecimiento, se dice que la presión de vapor de agua de la atmósfera que rodea las estacas debe mantenerse tan semejante como sea posible a la presión de agua que existe dentro de las hojas (Anónimo, 2002), esto sería favorecido por el uso de túneles de polietileno en contraposición al desarrollo de las mismas al aire libre.

Los resultados obtenidos en este trabajo ponen de manifiesto la ventaja del uso de túnel de polietileno debido a la precocidad en la brotación de las estacas y al desarrollo de un mayor número de raíces. El empleo de túnel y sustrato favorecen el desarrollo de un mayor número de raíces.

CONCLUSIONES

El uso de sustrato inerte compuesto por perlita y vermiculita (1:1) permite un mayor porcentaje de enraizamiento temprano y una mayor brotación inicial de yemas por estaca. En este sustrato compuesto la perlita aporta sus buenas propiedades de drenaje y la vermiculita su capacidad para mantener por más largo tiempo la humedad, favoreciéndose las condiciones del prendimiento temprano.

El uso de túnel de polietileno promueve la brotación vegetativa inicial de las yemas de las estacas, momento crítico en el prendimiento de las mismas, pues favorece la alta humedad relativa ambiente. Una vez que estas han enraizado profusamente, las raíces son ya capaces de compensar las pérdidas de agua y mantener el balance hídrico apropiado para la supervivencia del esqueje.

Este protocolo de clonación puede ser empleado en la multiplicación vegetativa de *O. selloi*; como herramienta para la utilización y conservación de esta especie medicinal.

BIBLIOGRAFÍA:

- Anónimo. 2002. Estrategias reproductivas en plantas superiores. [en línea] <<http://members.tripod.com/aromaticas/reproduccion.htm>> [Consulta: 11 nov. 2003].
- Escobar, H., Ligier, D., Melgar, R., Matteio, H., Vallejos, O. 1994. Mapa de Suelo de los Departamentos de Capital, San Cosme e Itatí, de la Provincia de Corrientes. I.N.T.A.-C.F.I.-I.C.A. 125 p.
- Hartmann, H.T.; Kester, D. E.; Davis, P.T. 1990. Plant Propagation: Principles and Practices, 5th ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 647 p.
- Khosla, M. K. 1995. Study on the inter-relationship, phylogeny and evolutionary tendencies in genus *Ocimum*. Journal of Plant Anatomy and Morphology 6:93-106.
- Leakey, R.R.B. 1990. Nuclea diderrichii: rooting of stem cuttings, clonal variation in shoot dominance, and branch plagiotropism. Trees 4, 164-169.
- Loach, K. 1985. Rooting of cuttings in relation to the propagation medium. Proc. Int. Plant Propagators Soc. 35, 472-485.
- Martins, E. R., V. W. D. Casali, L. C. A. Barbosa, and F. Carazza. 1997. Essential oil in the taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. Journal of Brazilian Chemistry Society 8:29-32.
- Martins, E. R. 1998. Estudos en *Ocimum selloi* Benth: Isoenzimas, morfologia e óleo essencial. En: Introduction to Ecological

- Biochemistry, Londres: Academic Press, p.1-27.
- Mesén, F.; Newton, A. C.; Leakey, R.R.B. 1997. Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruiz & Pavon) Okea: the effects of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. For.Ecol. Manage. 92, 45-54.
- Moraes, L. A.; Facanali, R.; Ortiz, M.; Marques, L. C. y Meireles, A. 2002. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. Anais da Academia Brasileira de Ciencias 74(1):183-186.
- Paton, A. 1992. A synopsis of *Ocimum* L. (*Labiatae*) in Africa. Kew Bulletin 47(3):403-435.
- Shiembo, P.N.; Newton, A.C.; Leackey, R.R.B.1996 a. Vegetative Propagation of *Irvingia gabonensis*, a West African fruit tree, For Ecol. Manage, 87, 185-192.
- Simon, A.F. Chadwick, y L.E. Craker. 1984. Herbs: an indexed bibliography 1971-1980; The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone, Archon Books, Hamden
- Sousa, M.P.; Matos, M.E.O.; Matos, F.J.A., Machado, M.I.L. y Craveiro, A.A. 1991 Constituentes Químicos Ativos de Plantas Medicinais Brasileiras, Edições UFC/Laboratorio de Produtos Naturais, Fortaleza, 414 p.
- Tchoundjeu, Z.; Leakey, R.R.B. 2001. Vegetative propagation of *Lovoa trichilloides*: effects of provenance, substrate, auxins and leaf area. J. Trop. For. Sci.13 (1), 116-129.
- Vanderline, F. A.,E. A. Costa, L. C. A. Dangelo, and W. S. Cortes.1994. Atividade antiinflamatória e analgésica do extracto etanólico de *Ocimum selloi* Benth. (Elixir Paregórico). Proceeding XIII Simposio de Plantas Medicinais do Brasil, UFC, Fortaleza, CE.
- Vieira, R. F., and J. E. Simon.2000. Chemical Characterization of Basil (*Ocimum spp*) Found in the Markets and Used in Traditional Medicine in Brazil. Economic Botany 54 (2):207-216.
- Xifreda, C. C. 1999. Lamiaceae. En: Zuloaga, F. O. y O. Morrone (Eds.). Catálogo de las Plantas Vasculares de la Argentina II. Monographs in Sistematic Botany from Missouri Botanical Garden 74. Saint Louis, MO. p. 768-781.